บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

สาหร่ายสไปรูลิน่า (*Spirulina* sp.) หรือ อาร์โธรสไปร่า (*Arthrospira* sp.) เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae) ที่มีการใช้ประโยชน์ทางด้านอาหารมาหลายศตวรรษ ปัจจุบันมีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อผลิตเป็นอาหารเสริมสุขภาพสำหรับมนุษย์และอาหารสัตว์ทางอุตสาหกรรมอย่างแพร่หลาย นอกจากนี้มีการสกัดซี-ไฟโคไซยานิน (C-phycocyanin: C-PC) จากสาหร่ายไปรูลิน่าเพื่อผลิตเป็นสารสีสำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องสำอางด้วย จากความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบว่าสาหร่ายสไปรูลิน่ามีศักยภาพเป็นแหล่งของสารโภชนเภสัช (Nutraceuticals) เพราะประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน วิตามิน และแร่ธาตุที่เป็นประโยชน์หลายชนิด ส่งผลให้มีการศึกษาและพัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงสไปรูลิน่า เพื่อการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างแพร่หลาย Belay (2002) รายงานว่าสาหร่ายสไปรูลิน่าและสารสกัดของสาหร่ายสไปรูลิน่าส่งผลดีต่อระบบชีวภาพหลายประการ เช่น แสดงคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant effect) ส่งผลดีต่อระบบภูมิคุ้มกัน (Immunomodulation effect) แสดงคุณสมบัติต้านทานไวรัส (Antiviral effect) และแสดงคุณสมบัติต้านมะเร็ง (Anticancer effect) ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้เกิดจากสารออกฤทธิ์ชีวภาพที่สำคัญ 3 ชนิดคือ ซี-ไฟโคไซยานิน ซัลเฟตพอลิแซ็กคาไรด์ (Sulfated polysaccharide spirulan) และกรดไขมันไม่อิ่มตัว Gamma linolenic acid (GLA)

ซี-ไฟโคไซยานิน และอัลโลไฟโคไซยานิน (Allophycocyanin: APC) เป็นสารประกอบโปรตีนที่พบในไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่ายสีแดงทำหน้าที่เก็บเกี่ยวพลังงานจากแสงแดดแล้วถ่ายเทพลังงานดังกล่าวผ่านเยื่อหุ้มไทลาคอยด์ (Thylakoid membrane) เข้าสู่ระบบการสังเคราะห์แสงของเซลล์ ซึ่งพบว่าประมาณ 50 % ของโปรตีนทั้งหมดที่มีอยู่ในสาหร่ายสไปรูลิน่า คือ อัลโลไฟโคไซยานิน และซี-ไฟโคไซยานิน (Tiensai, 1998) โดยจะพบซี-ไฟโคไซยานินมากกว่าอัลโลไฟโคไซยานินหลายเท่าตัว (Ciferri, 1983) การสะสมซี-ไฟโคไซยานินภายในเซลล์ขึ้นอยู่กับปัจจัยและสภาวะการเพาะเลี้ยงสาหร่าย เช่น สายพันธุ์สาหร่าย อุณหภูมิ ความเข้มแสง คุณภาพของแสง ระยะเวลาในการให้แสง ค่าความเป็นกรด-ด่าง ความเข้มข้นของเกลือ อัตราการเติมอากาศ อัตราการเติมคาร์บอนไดออกไซด์ ปริมาณแหล่งไนโตรเจน อายุของกล้าเชื้อ ปริมาณกล้าเชื้อ เป็นต้น สำหรับการประยุกต์ใช้ซี-ไฟโคไซยานินส่วนใหญ่ใช้เป็นสีผสมอาหาร ใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับมนุษย์ ใช้ผสมอาหารสัตว์ และบางส่วนใช้เป็นตัวรับรู้ทางวิทยาอิมมูน/วิทยาภูมิคุ้มกัน (Fluorescent probes) การประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ พบว่าซี-ไฟโคไซยานินแสดงวิสัยสามารถด้านการต้านออกซิเดชัน (Antioxidant) การต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory) และการต้านมะเร็ง (Anticancer) (Eriksen, 2008) มีรายงานว่า ซี-ไฟโคไซยานินและส่วนใสที่ได้จากอาหารเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียบางชนิดแสดงคุณสมบัติการต้านแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญได้ (Sabarinathan and Ganesan, 2008)

การเพาะเลี้ยงสไปรูลิน่าทางอุตสาหกรรมนิยมเพาะเลี้ยงแบบโฟโตออโททรอฟ (Photoautotrophic culture) ในลักษณะบ่อเปิดรางคู่ (Open raceway pond) โดยอาศัยแสงแดดเป็นแหล่งพลังงาน ด้วยเหตุนี้จึงมีต้นทุนในการผลิตต่ำกว่าการเพาะเลี้ยงในถังหมักแบบใช้แสง (Photobioreactor) โดยหลักการแล้วการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าในบ่อเปิดรางคู่มักเพาะเลี้ยงสาหร่ายในอาหารมาตรฐาน Zarrouk's medium เป็นระยะเวลา 1-2 สัปดาห์ โดยอาศัยแสงแดดเป็นแหล่งพลังงานและอาจมีการเติมหรือไม่เติมคาร์บอนไดออกไซด์ในระหว่างการเพาะเลี้ยง จากนั้นจะแยกเซลล์สาหร่ายออกโดยการกรองด้วยผ้ากรองสาหร่ายที่มีขนาดรูพรุนเหมาะสม เซลล์สาหร่ายที่แยกได้จะเข้าสู่ขั้นตอนการทำแห้งต่อไป ส่วนอาหารเหลวที่เหลือจากการแยกเซลล์สาหร่ายออกไปแล้วบางส่วนจะนำกลับมาใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายอีกครั้งเนื่องจากยังคงมีสารอาหารเหลืออยู่ซึ่งจะช่วยให้ต้นทุนการผลิตลดต่ำลง อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานวิจัยในการนำอาหารเหลวที่เหลือจากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าหลังจากแยกเซลลาหร่ายออกไปแล้วมาทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายใหม่ ดังนั้นสมควรอย่างยิ่งที่จะต้องมีการศึกษาเพื่อประเมินศักยภาพของอาหารเหลวดังกล่าวในการนำกลับมาใช้ใหม่และใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงสนับสนุนทางวิทยาศาสตร์ โดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ยังขาดองค์ความรู้ดังกล่าว

จากความสำคัญในขั้นต้นผู้วิจัยจึงได้พัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงสไปรูลิน่าแบบโฟโตออโททรอฟในระดับบ่อเปิดรางคู่เพื่อการผลิต ซี-ไฟโคไซยานินในแง่ของการลดต้นทุนและลดของเสีย โดยศึกษาประสิทธิภาพของอาหารเหลวที่เหลือจากการแยกเซลล์สาหร่ายในการเพาะเลี้ยงรอบที่ 1 ต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าในรอบที่ 2 และ 3 ตามลำดับ โดยระหว่างการเพาะเลี้ยงในรอบที่ 2 และ 3 นั้นจะมีการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) และโซเดียมไนเตรต ($NaNO_3$) ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตเจนหลักที่มีอยู่แล้วในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงและเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการสะสมซี-ไฟโคไซยานินภายในเซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่า การศึกษาขั้นต่อมาจะทำการสกัดสารสีซี-ไฟโคไซยานินจากสาหน่ายสไปรูลิน่าตามกรรมวิธีที่เหมาะสมเพื่อพัฒนาเป็นผงสีซี-ไฟโคไซยานินสำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารแล้วนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง จากนั้นศึกษาคุณภาพของผงสีที่พัฒนาได้และนำไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อประเมินศักยภาพของผงสีซี-ไฟโคไซยานิน ผลสำเร็จของโครงการวิจัยสามารถขยายผลสู่ภาคอุตสาหกรรมทำให้สามารถพัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงสไปรูลิน่าของประเทศไทยได้ อีกทั้งสามารถขยายผลสู่การผลิตผงสีซี-ไฟโคไซยานินเชิงพาณิชย์สำหรับประเทศไทยทำให้ลดการนำเข้าผงสีจากต่างประเทศได้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาประสิทธิภาพของอาหารเหลวที่เหลือจากการแยกเซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่าต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อการผลิตซี-ไฟโคไซยานิน
2. ศึกษากรรมวิธีการผลิตผงสีซี-ไฟโคไซยานินโดยวิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง
3. ศึกษาคุณภาพของผงสีซี-ไฟโคไซยานินที่พัฒนาได้
4. ศึกษาการประยุกต์ใช้ผงสีซี-ไฟโคไซยานินในผลิตภัณฑ์อาหารและทดสอบการยอมรับ

ขอบเขตการวิจัย

1. สาหร่ายสไปรูลิน่าที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้แก่ S. maxima IFRPD1183 ได้รับจากสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (Institute of Food Research and Product Development: IFRPD)

2. การศึกษาการผลิตซี-ไฟโคไซยานินภายใต้การเพาะเลี้ยงแบบโฟโตออโททรอฟ ระดับบ่อเปิดรางคู่เพาะเลี้ยงในบ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาด 250 ลิตร โดยใช้อาหาร Zarrouk's medium ปริมาตร 100 ลิตร ในการเพาะเลี้ยง โดยปรับความเข้มข้นของเซลล์สาหร่ายเริ่มต้นให้มีความขุ่นที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร (OD560) เท่ากับ 0.2

3. การสกัดซี-ไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อการผลิตผงสี ซี-ไฟโคไซยานิน พัฒนาวิธีการสกัดจากกรรมวิธีของสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ส่วนการทำแห้งผงสีจะใช้วิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry)

4. การทดลองนำผงสีที่ผลิตได้ไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ทดลองใช้ในอาหารที่เตรียมขึ้นเองอย่างน้อย 1 ชนิด ในปริมาณต่าง ๆ กัน แล้วนำไปประประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้งานผงสีซี-ไฟโคไซยานิน

คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย

1. สาหร่ายสไปรูลิน่า หรือ อาร์โธรสไปร่า (Arthrospira sp.) หรือสาหร่ายเกลียวทอง หมายถึง สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินแบบเส้นสาย (Filamentous cyanobacteria) จัดเป็นสาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) ที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่า ปัจจุบันเปลี่ยนชื่อเป็น Arthrospira เป็นสาหร่ายที่มีประวัติการบริโภคเป็นอาหารมาหลายศตวรรษ

2. ซี-ไฟโคไซยานิน (C-phycocyanin; C-PC) หมายถึง ไฟโคไบลิโซม (Phycobilisomes: PBS) ซึ่งเป็นสารประกอบโปรตีนที่ทำหน้าเก็บเกี่ยวพลังงานจากแสงแดดแล้วถ่ายเทพลังงานดังกล่าวผ่านเยื่อหุ้มไทลาคอยด์ (Thylakoid membrane) เข้าสู่ระบบการสังเคราะห์แสงของเซลล์ พบได้ในเซลล์พืชและไซยาโนแบคทีเรีย ประกอบด้วย 2 หน่วยย่อย คือ ไฟโคไบลิโปรตีน (Phycobilliprotein: PBPs) หรือไบลิโปรตีน (Biliprotein) และสายพอลิเพปไทด์ทีเป็นตัวเชื่อมโยง (Linker polypeptide)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. นำเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการที่เกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมอาหาร
2. จดอนุสิทธิบัตรกรรมวิธีการผลิตผงสีธรรมชาติซี-ไฟโคไซยานิน